

## 돌가자미 (*Kareius bicoloratus*) 피부계의 미세구조 및 조직화학

이 정 식\*, 진 영 국  
여수대학교 어병학과

### Ultrastructure and Histochemistry on the Integumentary System of the Stone Flounder, *Kareius bicoloratus* (Teleostei: Pleuronectidae)

Jung Sick Lee\* and Young Guk Jin

Department of Fish Pathology, Yosu National University, Yosu 550-749, Korea

(Received October 22, 2001)

#### ABSTRACT

Integumentary structures of the stone flounder, *Kareius bicoloratus* were examined by means of the light and transmission electron microscopy. Stratified epidermal layer consists of supporting cells, unicellular glands and granular cells. The epidermal layer could be classified into superficial, intermediated and basal layer by morphology and structure of the supporting cells. The cytoplasm of supporting cells is divided into cortex and medullar part. In the cortex microfilaments are well developed. Mucous cells of unicellular gland were observed in the superficial and intermediated layer of the epidermis. The mucous materials were identified as glycoprotein of neutral and carboxylated mucosubstance by histochemical methods. Club cell has well-developed smooth endoplasmic reticula and Golgi complex in the cytoplasm. Granular cells were observed in the intermediated and basal layer, and the cytoplasm is occupied with membrane-bounded granules of electron dense. Three types of pigment cells could be distinguished with electron density of cytoplasmic inclusions. Nerve myelins were observed near the pigment cells.

**Key words :** *Kareius bicoloratus*, Integument, Ultrastructure

#### 서 론

동물의 피부는 개체의 내부와 그들이 서식하는 환경사이에서 조절자의 역할을 하기 때문에 피부계의 구조와 구성은 개체의 적응과정을 보여준다(Fishelson, 1972). 특히 육상 보다 환경의 변화가 심한 수중에

서식하는 동물의 피부는 상피세포가 삼투압의 불균형 및 환경적인 유해성분 등에 직접 노출되어 있으므로 육상동물에서 보다 더욱 다양한 기능을 수행해야 한다.

어류 피부계의 구조 및 구성세포들의 기능에 관한 연구는 오래 전부터 수행되어왔다. 어류의 피부계는 크게 상피층과 진피층으로 구성되고, 피부를 구성하

\* Correspondence should be addressed to Dr. Jung Sick Lee, Department of Fish Pathology, Yosu National University, Yosu 550-749, Korea.

Ph.: (061) 659-3172, FAX: (061) 659-3172, E-mail: LJS@yosu.ac.kr

Copyright © 2001 Korean Society of Electron Microscopy

는 세포들의 종류와 발달 정도는 종, 연령, 생활환경 그리고 이들의 생리적 상태에 따라 매우 다양하다 (Henrikson & Matoltsy, 1968; Burton & Everard, 1991; Eastman & Hikida, 1991; Hertwig et al., 1992; Park et al., 1995a, b; Lee & Kim, 1999).

따라서 본 연구는 저서 정착성 어류인 돌가자미를 대상으로 이들 피부계의 조직화학적 특성과 미세구조를 기재함으로써 추후 이들 어류의 생활환경 및 생리적 변화에 따른 피부계의 변화 양상에 관한 연구의 기초자료를 제공하고자 하였다.

## 재료 및 방법

본 연구에 사용된 돌가자미는 1999년 2월 광양만 인근해역에서 채집된 체장 25.0~30.0 cm의 개체들이다. 채집 즉시 현장에서 아가미 뚜껑 뒤의 등쪽에서 피부조직을 절취하여 고정하였다.

광학현미경 조직표본은 Bouin's fluid에 고정 후 파라핀 절편법으로 두께 5~6  $\mu\text{m}$ 의 횡단면으로 제작하였으며, Mayer's hematoxylin과 0.5% eosin (H-E)의 비교염색과 Mallory 삼중염색, periodic acid-Schiff's solution (PAS) 반응, alcian blue-periodic acid-Schiff's solution (AB-PAS, pH 2.5) 반응과 aldehyde fuchsin-alcian blue 반응을 실시하였다.

투과전자현미경 (TEM) 조직표본 제작은 절취한 피부조직을 0.1 M phosphate buffer (pH 7.2)로 완충시킨 2.5% glutaraldehyde 용액으로 전 고정하였다. 그리고 1% osmium tetroxide ( $\text{OSO}_4$ )로 4°C에서 2시간 동안 후 고정하였다. 고정이 끝난 조직은 탈수하여 Epon 812에 포매하였다. 포매된 조직은 두께 0.5  $\mu\text{m}$ 의 semithin section 후 70 nm의 ultrathin section을 하였다. Ultrathin section은 uranylacetate와 lead citrate 용액으로 이중 염색하여 투과전자현미경 (JEM-1200EXII, JEOL)으로 관찰하였다.

## 결과 및 고찰

광학 및 전자현미경적 연구 결과 돌가자미의 피부계는 상피층과 진피층으로 구성되어 있었다. 상피층

은 6~8층의 세포층으로 이루어진 다층구조로서 (Fig. 1A), 지지세포, 선세포 및 과립세포들로 구성되며, 지지세포의 형태에 따라 크게 표면층 (superficial layer), 중간층 (intermediated layer) 및 기저층 (basal layer)으로 나눌 수 있었다.

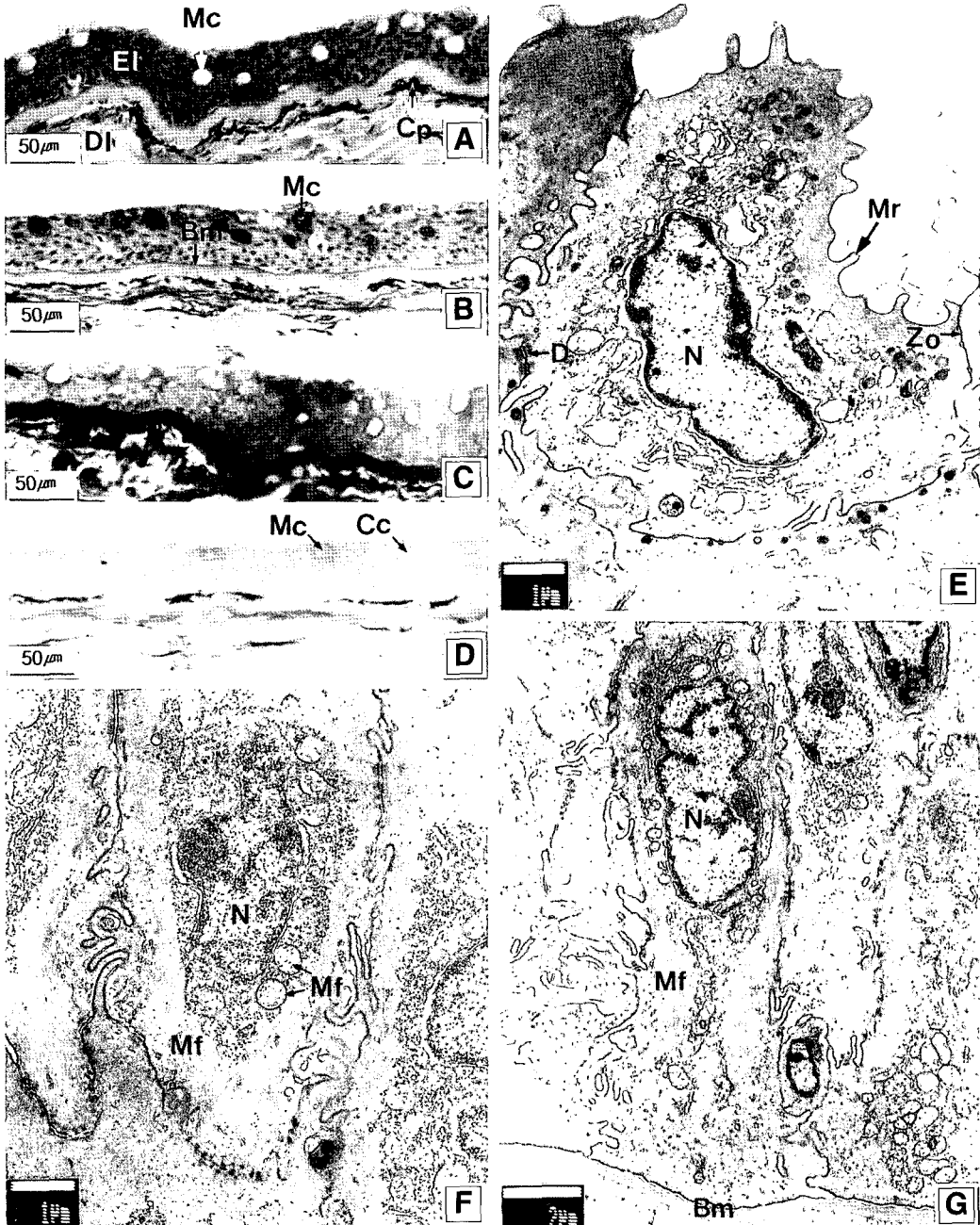
돌가자미 피부계의 이러한 구조는 *Lepadichthys lineatus* (Fishelson, 1972), *Esox americanus* (Merrilees, 1974), *Gymnodraco acuticeps* (Eastman & Hikida, 1991), palembang puffer, *Tetraodon steindachneri* (Hertwig et al., 1992), guppy, *Poecilia reticulatus* (Moon, 1995), 농어, *Lateolabrax japonicus* (Lee & Kim, 1999), 베도라치, *Pholis nebulosa* (Lee et al., 2000a), 문치가자미, *Limanda yokohamae* (Lee et al., 2000b) 그리고 넙치, *Paralichthys olivaceus* (Kim, 2001) 등 대부분 어류의 피부계와 유사한 구조임을 보여주는 결과였다.

돌가자미 피부 상피층 가운데 표면세포층을 구성하는 지지세포들은 편평형이며 핵은 타원형이었다. 자유면에서는 다수의 미세융기 (microridge)들이 발달되어 있으며, 미세융기의 말단은 glycocalyx로 덮여 있었다. 표면세포 사이의 세포간 결합구조로는 폐쇄대 (zonula occludens), 접착대 (zonula adherens) 및 부착반 (desmosome)이 관찰되었다 (Fig. 1E).

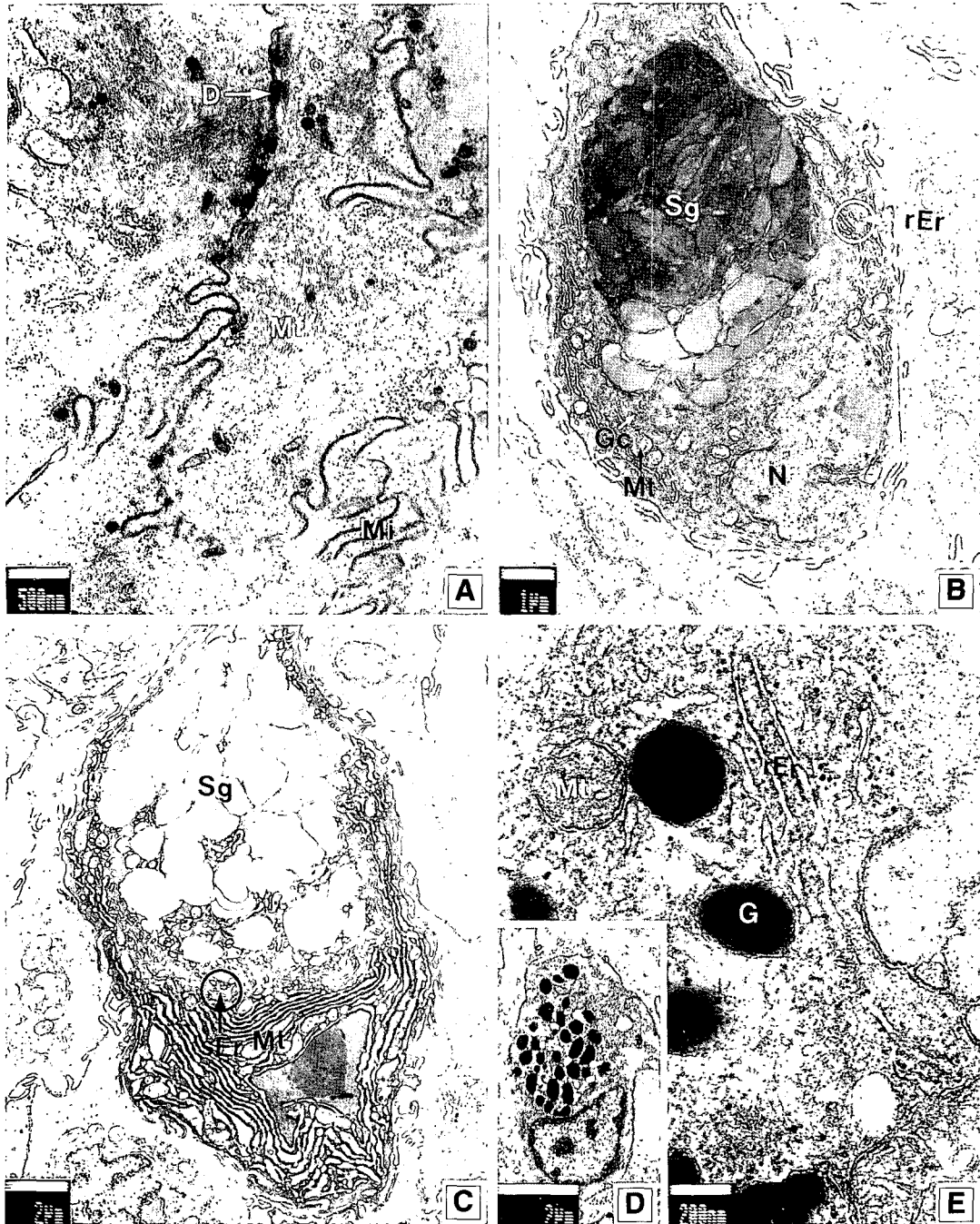
중간층을 구성하는 지지세포들의 형태는 키 작은 원주형이었다. 세포질 피질부에는 미세섬유가 잘 발달되어 있으며, 핵 주변 세포질에는 미토콘드리아의 발달이 뚜렷하였다. 주변의 세포들과는 부착반과 membrane interdigitation으로 연결되어 있었다 (Fig. 1F).

기저층을 구성하는 세포들은 원주형으로 타원형의 핵은 세포질의 상부에 위치한다. 원형질막 근처의 세포질에는 미세섬유가 잘 발달되어 있으며, 핵 주변의 세포질에는 소포체를 비롯한 다양한 세포소기관들이 분포하고 있었다 (Fig. 1G). 원형질막의 부착반과 membrane interdigitation은 지지세포 가운데 가장 잘 발달되어 있었다 (Fig. 2A).

돌가자미의 피부 상피층 지지세포들의 특징 가운데 세포질 피질부의 미세섬유 발달은 같은 가자미과 (Pleuronectidae)에 속하는 문치가자미에서도 보고되었다 (Lee et al., 2000b). 이러한 현상은 세포질 피질부



**Fig. 1.** Histochemistry and ultrastructure on the integumentary system of the stone flounder, *Kareius bicoloratus*. [A]: Section of H-E stain showing the stratified epidermal layer (El) and vacuolar mucous cells (Mc). [B]: Section of PAS reaction showing the positive mucous cells. [C]: Section of Mallory triple stain showing the vacuolar mucous cells. [D]: Section of aldehyde fuchsin-alcian blue reaction showing the mucous cells of alcian blue positive. [E]: Electron micrograph of superficial cell showing the developed microridges (Mr). [F]: Intermediate cell of epidermal layer. [G]: Basal cell on the basal membrane (Bm). Notice the well developed microfilaments (Mf). Cc: club cell, Cp: chromatophores, Dl: dermal layer, Mt: mitochondria, N: nucleus, Zo: zonula occludens.



**Fig. 2.** Continued. **[A]**: Section showing the well developed desmosome (D) and membrane interdigitation (Mi) of basal cells. **[B]**: Section of mucous cell showing the numerous secretory granules (Sg) of high electron density in the cytoplasm. **[C]**: Club cell. Notice the well developed smooth endoplasmic reticula (sEr) and mitochondria (Mt). **[D]**: Granular cell has numerous granules of high electron density. **[E]**: Granular cell has membrane-bounded granules (G) and developed rough endoplasmic reticula (rEr). Gc: Golgi complex, N: nucleus.

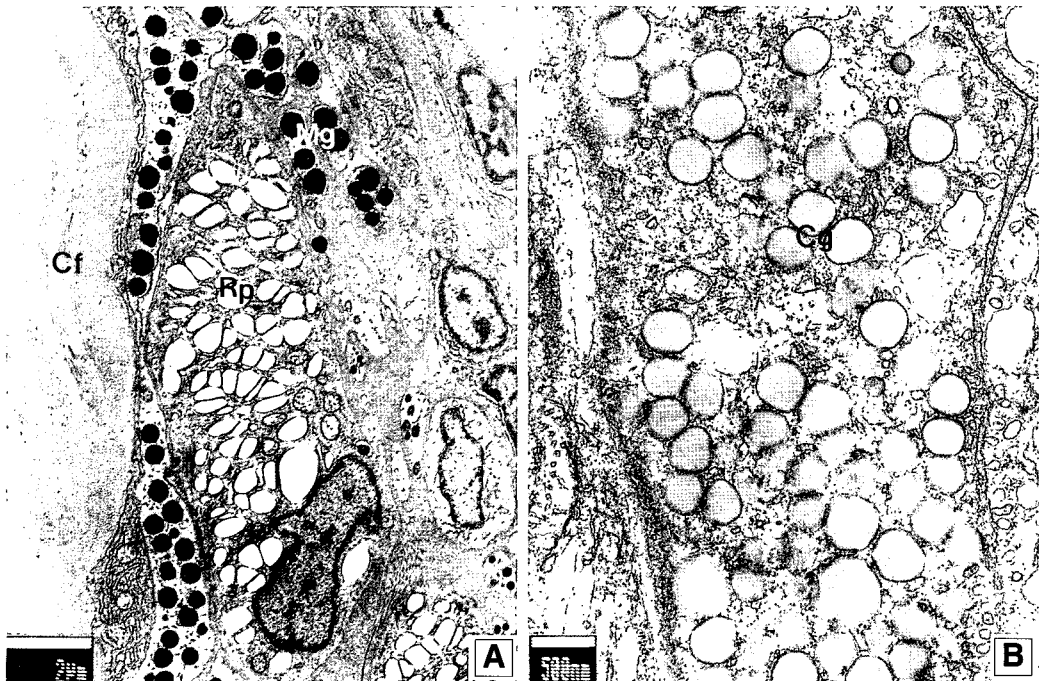
에서 관찰되는 미세섬유들은 장미세섬유 (tonofilament)로서 기능하므로 지지세포들이 외부 환경요인의 변화에 대한 세포들의 형태적 적응을 용이하게 할 수 있는 조건을 제공하는 것으로 판단된다.

피부계 표면세포에서 관찰되는 요철형태의 미세용기는 palembgang puffer, *Tetraodon steindachneri* (Hertwig et al., 1992), 뱀장어 (Park et al., 1995a), 농어 (Lee & Kim, 1999), 문치가자미 (Lee et al., 2000b) 등에서도 보고된 미세구조로서 이는 점액물질을 어류의 체표에 유지시켜줌으로써 물과의 마찰력을 감소시켜 유영력을 높이며, 생물학적 방어기능을 효과적으로 수행할 수 있도록 하는 구조이다. 그리고 미세용기를 덮고있는 glyocalyx는 생물학적 자극에 대한 인지기능과 관련이 있다 (Hawkes, 1974; Mittal et al., 1980; Park et al., 1995a).

어류 피부계에 존재하는 점액세포의 특징은 서식지 또는 종에 따라 다양하게 보고되고 있다. 점액세포들이 가지는 점액의 성상은 베도라치의 경우에는

중성이며 (Lee et al., 2000a), 문치가자미는 약산성 (Lee et al., 2000b), brown trout, *Salmo trutta* (Pickering, 1974), murrel, *Channa striata* (Mittal & Banerjee, 1975), *Gymnodraco acuticeps* (Eastman & Hikida, 1991), 금붕어, *Carassius auratus* (Jeong & Moon, 1994), 뱀장어 (Park et al., 1995b) 그리고 미꾸리, *Misgurnus anguillicaudatus* (Park & Kim, 1999)는 산성이다.

돌가자미 피부 상피층에서 점액세포들은 주로 표층과 중간층에 분포하였다. 점액세포들은 단세포 분비선의 형태로 세포질은 H-E 염색에서는 공포형태로 관찰된다 (Fig. 1A). PAS 반응 결과 이들 세포의 세포질은 붉은색으로 반응하였으며 (Fig. 1B), Mallory 삼중염색에서는 옅은 푸른색으로 반응하였다 (Fig. 1C). 그리고 AB-PAS (pH 2.5) 반응에서는 붉은색으로 반응하였으며, aldehyde fuchsin-alcian blue 반응에서는 청색으로 반응하였다 (Fig. 1D). 이러한 결과로부터 돌가자미 피부상피층의 점액세포들이 가지는 점



**Fig. 3.** Continued. **[A]**: Section showing the developed collagen fibers (Cf), pigment cells of two type and nerve myelins in the dermal layer. Mg: melanin granules, Rp: reflecting platelets (Rp). **[B]**: Section showing the carotenoid granules (Cg) of low electron density.

액은 주로 중성의 당단백질 가운데 carboxylated mucosubstance로 구성되어 있음을 알 수 있었다.

전자현미경 관찰 결과 점액세포의 핵은 세포의 기저부에 위치하며, 세포질에서는 발달된 조면소포체, 골지체 및 미토콘드리아들과 막을 가진 다양한 크기의 분비과립들이 관찰되었다(Fig. 2B).

본 연구에서 곤봉상세포들은 주로 표층과 중간층에 분포하며, 세포질은 H-E 염색, AB-PAS 반응, Mallory 삼중염색 및 aldehyde fuchsin-alcian blue 반응에서 모두 공포형태로 세포질은 균질하게 나타났다(Fig. 1A-D). 전자현미경 관찰 결과 곤봉상세포들의 세포질에서는 잘 발달된 활면소포체와 미토콘드리아들이 관찰되었지만, 미세섬유의 발달은 관찰되지 않았다(Fig. 2C).

일반적으로 점액세포와 같은 외분비선은 분비양상에 따라 점액성분과 세포성분이 함께 분비되는 전분비선(holocrine gland)과 점액성분만 분비되는 부분분비선(merocrine gland)으로 나뉜다. 돌가자미의 경우에도 분비가 활성적인 점액세포에서 세포사 또는 세포성분의 붕괴는 관찰되지 않으므로 점액세포는 부분분비 형태를 취한다고 할 수 있으며, 이러한 부분분비 형태는 금붕어(Jeong & Moon, 1994)와 문치가자미(Lee et al., 2000b)에서도 보고된 바 있다.

곤봉상세포의 미세구조, 분포 정도, 기능은 어종 및 성장시기 그리고 계절적인 차이를 보인다. 곤봉상세포들은 경고물질과 항병원성 물질 분비기능을 가지며(Leonard & Summers, 1976; Suzuki & Kaneko, 1986), minnows, *Phoxinus phoxinus*에서는 페로몬 분비 기능이 보고되었다(Irving, 1996).

어류 피부 상피층의 과립세포에 대해서는 보고가 매우 적으며, Whitear(1986)는 과립의 방출양상은 손상된 부위에서 전분비 형태로 이루어질 것이라고 추측하였다.

돌가자미 피부상피층에서 관찰된 과립세포의 형태는 원형으로 금붕어(Jeong & Moon, 1994)나 문치가자미(Lee et al., 2000b)와 마찬가지로 주로 중간층과 기저층에 존재하였다. 전자현미경 관찰 결과 핵은 아래쪽에 위치하며, 세포질은 막을 가진 전자밀도가 높은 과립들이 대부분을 차지하며(Fig. 2D), 잘 발달된 조면소포체와 일부 미토콘드리아가 관찰되었다(Fig.

2E). 이들 세포에서 과립의 체외 방출은 관찰하기 어려웠다.

진피층은 치밀결합조직으로서 콜라겐 섬유가 밀집되어 발달되어 있었으며, 섬유세포, 색소세포 및 신경종말 등이 관찰되었다.

광학현미경 관찰 결과 색소세포는 기저막과 인접한 진피층에서 주로 분포하고 있었으며(Fig. 1A), 투과전자현미경 관찰 결과 색소세포들은 흑색세포, 백색세포 및 황색세포가 구분되었다. 백색세포는 세포질에 반사소판(reflecting platelet)이 잘 발달되어 있으며, 흑색세포는 전자밀도가 높은 멜라닌 과립을 가지며(Fig. 3A), 황색세포는 전자밀도가 다소 낮은 카로테노이드 과립을 함유하고 있었다(Fig. 3B). 그리고 이들 색소세포의 주변에서는 신경종말 구조들이 관찰되었다.

일반적으로 어류의 체색변화는 형태학적 체색변화(morphological color change)와 생리학적 체색변화(physiological color change)로 구분되는데, 생리학적 체색변화는 피부 색소세포의 빠른 분포변화에 의한 것으로 신경지배를 받는다(Fujii and Novales, 1969). 따라서 본 연구에서 색소세포의 주변에서 관찰된 신경종말 구조들은 돌가자미의 생리적 체색변화에 관여하는 것으로 판단된다.

## 참 고 문 헌

- Burton D, Everard BA: The effect of androgen treatment on the epidermis of post-spawned winter flounder, *Pseudopleuronectes americanus* (Walbaum). J Fish Biol 38: 73-80, 1991.
- Eastman JT, Hikida RS: Skin structure and vascularization in the Antarctic notothenioid fish *Gymnodraco acuticeps*. J Morphol 208: 347-365, 1991.
- Fishelson L: Histology and ultrastructure of the skin of *Lepidichthys lineatus* (Gobiesocidae: Teleostei). Mar Biol 17: 357-364, 1972.
- Fujii R, Novales RR: Cellular aspects of the control of physiological color changes in fishes. Am Zool 9: 453-463, 1969.
- Hawkes JW: The structure of fish skin. I. General organization. Cell Tissue Res 149: 147-158, 1974.

- Henrikson RC, Matoltsy AG: The fine structure of teleost epidermis. I. Introduction and filament containing cells. *J Ultrastruct Res* 21 : 194-212, 1968.
- Hertwig I, Eichelberg H, Hentschel J: Light and electron microscopic studies of the skin of the palembang puffer, *Tetraodon steindachneri* (Teleost, Tetraodontidae). *Zoomorphology* 111 : 193-205, 1992.
- Irving PW: Sexual dimorphism in club cell distribution in the European minnow and immunocompetence signalling. *J Fish Biol* 48 : 80-88, 1996.
- Jeong YK, Moon MJ: Integumental secretory cells in goldfish, *Carassius auratus* L.. *Korean J Electron Microscopy* 24 : 1-10, 1994.
- Kim JW: Effect of PCBs on the organ differentiation and development in the life stage of the bastard halibut, *Paralichthys olivaceus*. Ph. D. Thesis Pukyong Nat'l Univ p. 109, 2001.
- Lee JS, An CM, Huh SH: Integumentary ultrastructure of the blenny, *Pholis nebulosa* (Teleostei: Pholidae). *J Korean Fish Soc* 33 : 148-152, 2000a.
- Lee JS, Kang JC, Baek HJ: Ultrastructure on the integumentary epidermis of the marbled sole, *Limanda yokohamae* (Teleostei: Pleuronectidae). *Korean J Electron Microscopy* 30 : 303-310, 2000b.
- Lee JS, Kim JW: Fine structure of the integumentary supporting cell and gland cell of the sea bass, *Lateolabrax japonicus* (Teleostei: Moronidae). *Korean J Electron Microscopy* 29 : 417-426, 1999.
- Leonard JB, Summers RG: The ultrastructure of the integument of the American eel, *Anguilla rostrata*. *Cell Tissue Res* 171 : 1-30, 1976.
- Merrilees MJ: Epidermal fine structure of the teleost *Esox americanus* (Esocidae: Salmoniformes). *J Ultrastruct Res* 47 : 272-283, 1974.
- Mittal AK, Banerjee TK: Histochemistry and the structure of the skin of a murrel, *Channa striata* (Bloch, 1797) (Channiformes, Channidae). I. Epidermis. *Can J Zool* 53 : 833-843, 1975.
- Mittal AK, Whitear M, Agarwal SK: Fine structure and histochemistry of the epidermis of the fish, *Monopterusuchia*. *J Zool* 191 : 107-125, 1980.
- Moon YW: Ultrastructural changes of the epidermis of guppy (*Poecilia reticulatus*) scale adapted to the seawater. *Korean J Electron Microscopy* 25 : 104-114, 1995.
- Park IS, Kim JJ, Jo UB, Park SO: Fine structural changes in the eel epidermis according to sea water adaptation. I. Epithelial cell. *Korean J Zool* 38 : 26-37, 1995a.
- Park IS, Kim JJ, Jo UB, Park SO: Fine structural changes in the eel epidermis according to sea water adaptation. II. Mucous cell and club cell. *Korean J Zool* 38 : 38-47, 1995b.
- Park JY, Kim IS: Structure and histochemistry of skin of mud loach, *Misgurnus anguillicaudatus* (Pisces, Cobitidae), from Korea. *Korean J Ichthyol* 11 : 109-116, 1999.
- Pickering AD: The distribution of mucous cells in the epidermis of the brown trout *Salmo trutta* (L.) and the char *Salvelinus alpinus* (L.). *J Fish Biol* 6 : 111-118, 1974.
- Whitear M: The skin of fishes including cyclostomes. In: Bereiter-Hahn J, Matoltsy AG, Richards KS, eds, *Biology of the integument*. 2 Vertebrates, Springer-Verlag, New York, pp. 8-77, 1986.
- Suzuki Y, Kaneko T: Demonstration of the mucous hemagglutinin in the club cells of eel skin. *Dev Comp Immun* 10 : 509-518, 1986.

#### < 국문 초록 >

돌가자미의 피부 상피층은 다층상피층으로 지지세포, 선세포 그리고 과립세포들로 구성된다. 상피층은 지지세포의 형태와 구조에 따라 표면층, 중간층 및 기저층으로 구분할 수 있었다. 지지세포들의 세포질은 피질부와 수질부로 나누어지는데, 피질부에는 미세섬유의 발달이 뚜렷하다. 점액세포들은 단세포선으로 상피의 표면층과 중간층에서 관찰된다. 점액세포의 점액물질은 중성이며, carboxylated mucosubstance의 당단백질로 확인되었다. 근방상세포는 세포질에 잘 발달된 환원소포체와 골지체를 가진다. 과립세포는 주로 중간층과 기저층에 존재하고, 세포질은 막을 가진 전자밀도가 높은 과립들이 차지한다. 색소세포는 세포질에 존재하는 함유물의 전자밀도에 따라 세 종류로 구분할 수 있었으며, 색소세포 근처에서 신경종말을 관찰할 수 있었다.